

Seleksi Khamir Epifit Sebagai Agens Antagonis Penyakit Antraknosa Pada Cabai

(Selection of Epiphytic Yeasts as Antagonist of Anthracnose on Chili)

Hartati, S¹⁾, Wiyono, S²⁾, Hidayat, SH²⁾, dan Sinaga, MS²⁾

¹⁾Mahasiswa Program Studi Fitopatologi, Sekolah Pascasarjana IPB

Jl. Kamper Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

²⁾Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB

Jl. Kamper Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

E-mail: shartati2121@yahoo.co.id

Naskah diterima tanggal 21 Agustus 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 26 September 2014

ABSTRAK. Antraknosa merupakan penyakit penting pada tanaman cabai yang dapat menyebabkan kerugian ekonomi cukup besar. Khamir merupakan salah satu mikroba yang telah diketahui berpotensi sebagai agens antagonis pada berbagai produk pascapanen. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat-isolat khamir epifit yang berpotensi sebagai agens antagonis penyakit antraknosa pada cabai. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Tumbuhan dan Kebun Percobaan Institut Pertanian Bogor, dari bulan April sampai Desember 2013. Khamir epifit diisolasi dari daun dan buah cabai merah yang diperoleh dari pertanaman cabai di Rancabango dan Panjiwangi (Kabupaten Garut) dan Dramaga (Kabupaten Bogor). Patogen penyebab antraknosa yaitu *Colletotrichum acutatum* diisolasi dari buah cabai bergejala dari pertanaman cabai di Panjiwangi. Khamir hasil isolasi diuji patogenisitasnya pada benih dan buah cabai. Khamir nonpatogenik diseleksi potensi antagonismenya terhadap penyebab penyakit antraknosa. Diperoleh 43 isolat khamir epifit, semua isolat bersifat nonpatogenik berdasarkan hasil uji patogenisitas. Seleksi potensi antagonisme isolat khamir epifit menghasilkan 23 isolat yang berpotensi sebagai agens antagonis *C. acutatum*. Empat belas isolat khamir epifit menyebabkan penghambatan penyakit antraknosa lebih besar dibandingkan mancozeb.

Katakunci: *Colletotrichum acutatum*; *Capsicum annum*; Fungisida

ABSTRACT. Anthracnose is a major disease on chili which economically causes a great loss. Yeast was proven as potential antagonistic agents against various post harvest pathogens. This research was aimed to obtain epiphytic yeast isolates which is potential as antagonistic agents against anthracnose on chili. The experiments were carried out in the Laboratory of Plant Mycology and University Research Farm Field at Bogor Agricultural University from April to December 2013. The epiphytic yeasts were isolated from leaves and fruits of red chili grown at Rancabango and Panjiwangi (Garut) and Dramaga (Bogor). Anthracnose pathogen, *Colletotrichum acutatum*, was isolated from diseased chili fruit grown at Panjiwangi. The pathogenicity of the yeast isolates was tested on the seed and fruit of chili. Nonpathogenic yeasts were selected for the antagonistic potential against anthracnose pathogen. Forty three isolates of epiphytic yeasts was obtained, all of them was nonpathogenic based on pathogenicity test. Twenty three epiphytic isolates had the antagonistic potential against *C. acutatum*. There were 14 epiphytic yeast isolates that caused greater inhibition of anthracnose disease than mancozeb.

Keywords: *Colletotrichum acutatum*; *Capsicum annum*; Fungicide

Antraknosa merupakan penyakit utama yang menyebabkan kerugian secara ekonomi di seluruh pertanaman cabai di dunia (Than *et al.* 2008), dan merupakan penyakit penting di daerah tropis maupun subtropis (Sangdee *et al.* 2011). Penyakit ini dapat menyebabkan kehilangan hasil 50% (Than *et al.* 2008).

Perlindungan tanaman cabai untuk mengurangi kerugian akibat penyakit antraknosa yang paling umum dilakukan adalah menggunakan fungisida sintetik. Ketergantungan pada fungisida sintetik menyebabkan patogen resisten terhadap fungisida tersebut (Ziogas *et al.* 2005), dan dapat merusak lingkungan serta meninggalkan residu pada buah.

Pengendalian hayati terhadap penyakit pra dan pascapanen telah menjadi salah satu alternatif yang

diteliti secara intensif. Mikroba antagonis yang telah dilaporkan dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit pascapanen adalah khamir (Irtwange 2006). Filosfer merupakan sumber mikroba antagonis termasuk khamir. Khamir dapat ditemukan pada permukaan buah dan daun sebagai epifit dalam jumlah yang banyak dan beragam (Glushakova & Chernov 2009). Khamir penghuni daun, bunga, dan buah merupakan sumber alami yang cocok untuk mencari dan mendapatkan antagonis filofit yang akan digunakan sebagai agens pengendali hayati. Adanya nutrisi yang berasal dari permukaan daun dan buah diharapkan dapat menstimulasi khamir untuk mencegah infeksi patogen pada tanaman.

Beberapa penelitian menunjukkan keberhasilan penggunaan khamir sebagai agens biokontrol terhadap

patogen pada buah-buahan dan sayuran. Khamir filosoffer yang diisolasi dari daun tomat diketahui berpotensi sebagai antagonis terhadap penyakit *grey mould* yang disebabkan oleh *Botrytis cinerea* pada tomat (Kalogiannis et al. 2006). Sembilan dari 30 isolat khamir yang diperoleh mampu mengurangi indeks penyakit tersebut lebih dari 90%. *Rhodotorula glutinis* Y-44 adalah khamir yang paling efisien dalam mengendalikan *grey mould* pada tanaman tomat (Kalogiannis et al. 2006). Haïssam (2011) melaporkan bahwa *Pichia anomala* strain K memiliki aktivitas antagonisme yang tinggi terhadap *B. cinerea* dan *Penicillium expansum* pada apel. Spesies khamir *Debaryomyces hansenii* menunjukkan aktivitas biologi dengan spektrum yang luas (Sharma et al. 2009). Chanchaichaovivat et al. (2007) melaporkan bahwa beberapa spesies khamir yaitu *P. guilliermondii*, *Candida musae*, *Issatchenkia orientalis*, dan *C. quercitrusa* mampu mengurangi kejadian penyakit antraknosa pada buah cabai yang disebabkan oleh *Colletotrichum capsici*.

Penelitian penggunaan khamir sebagai agens biokontrol penyakit antraknosa pada tanaman cabai di Indonesia masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat-isolat khamir epifit yang berpotensi sebagai agens antagonis penyakit antraknosa pada cabai. Hipotesis yang diajukan ialah bahwa khamir epifit dapat diperoleh dari permukaan daun dan buah cabai dan isolat-isolat khamir epifit tersebut mampu menghambat penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum* sp.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Tumbuhan dan Kebun Percobaan Institut Pertanian Bogor, dari bulan April sampai dengan Desember 2013. Bahan yang digunakan ialah daun dan buah cabai merah varietas Tanjung dan Hot *Chili* serta benih cabai merah varietas Gelora. Media isolasi khamir yang digunakan ialah *martin agar* (MA), *yeast glucose chloramphenicol agar* (YGCA), dan *malt extract agar* (MEA), sedangkan untuk penyimpanan khamir digunakan media *potato dextrose agar* (PDA). Seleksi antagonisme khamir menggunakan fungisida mankozeb 80% sebagai pembanding, tween 80% (v/v) sebagai perata, dan bahan sterilisasi yaitu alkohol 70%, kloroks 1%, dan akuades steril.

Penelitian tahap uji patogenisitas khamir disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yaitu perlakuan sejumlah isolat khamir epifit yang didapatkan dari tahap isolasi. Setiap perlakuan diulang dua kali, dengan tiap ulangan menggunakan 10 satuan

pengamatan. Analisis data dilakukan dengan sidik ragam menggunakan software SPSS (versi 10.0 for Windows), yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (*Duncan multiple range test*) pada taraf nyata 5%.

Tahap awal penelitian dilakukan dengan pengambilan sampel tanaman cabai di sentra produksi cabai di Rancabango dan Panjiwangi, Garut dan Dramaga, Bogor (Jawa Barat). Pada tiap lokasi dipilih tiga plot pertanaman cabai dan dari tiap plot diambil beberapa sampel tanaman sehat dan sakit. Sampel diambil dari bagian daun dan buah cabai merah. Sampel buah cabai yang diambil kurang lebih berumur 2 minggu.

Isolasi khamir epifit dilakukan maksimal 1 minggu setelah pemetikan daun dan buah. Metode isolasi khamir merujuk pada Assis & Mariano (1999). Daun dan buah yang sehat masing-masing ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam 100 ml akuades steril, selanjutnya dicampur menggunakan *rotary shaker* selama 15 menit dengan kecepatan 120 rpm. Suspensi yang didapatkan dibuat seri pengenceran sampai 10^{-3} . Setiap pengenceran diambil suspensi sebanyak 100 μ l dan disebarkan pada media MA, YGCA, dan MEA pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 23–30°C selama 3–7 hari. Pemurnian khamir dilakukan dari koloni tunggal yang tumbuh dengan cara digoreskan pada media PDA dan diinkubasi kembali. Penyimpanan khamir dilakukan pada PDA miring dan disimpan di dalam ruang bersuhu 4°C.

Isolasi patogen antraknosa dilakukan dari buah cabai bergejala antraknosa yang didapatkan dari pertanaman cabai di Desa Panjiwangi, Garut. Identifikasi patogen antraknosa dilakukan secara morfologi dan molekuler. Identifikasi morfologi dilakukan dengan kunci identifikasi Barnett & Hunter (1998) dan Alexopoulos & Mims (1996). Identifikasi molekuler terhadap patogen antraknosa dilakukan berdasarkan metode ekstraksi Abd-Elsalam et al. (2003). PCR dilakukan menggunakan primer spesifik yaitu pasangan *forward primer* CaInt2 (5'-GGGGAAGCCTCTCGCGG-3') dan *reverse primer* ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3').

Uji patogenisitas patogen antraknosa menggunakan buah cabai varietas *Hot Chili* dan isolat *Colletotrichum* sp. berumur 10 hari. Uji patogenisitas dilakukan dengan menginokulasi permukaan buah tersebut dengan meneteskan suspensi cendawan *Colletotrichum* sp. sebanyak 20 μ l kerapatan konidium 10^4 konidium/ml melalui luka yang dibuat dengan jarum steril. Kerapatan spora dihitung menggunakan haemositometer. Selanjutnya buah cabai diinkubasi dalam wadah

tertutup pada kondisi lembab (RH 95%) dan suhu 28°C. *Colletotrichum* sp. yang bersifat patogenik akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Uji patogenisitas khamir dilakukan terhadap isolat-isolat khamir epifit yang didapatkan dari tahap isolasi. Pengujian dilakukan menggunakan benih cabai varietas Gelora dan biakan khamir berumur 5 hari. Benih cabai disterilisasi dengan alkohol 70% dan kloroks 1% selama 1 menit dan dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Benih yang telah steril direndam dalam suspensi khamir dengan kerapatan 10^7 sel/ml selama 60 menit. Benih yang telah direndam, dikeringanginkan pada kertas saring steril. Selanjutnya, benih tersebut ditanam pada media kertas saring steril yang sudah dilembabkan pada cawan petri. Peubah yang diamati ialah persentase benih yang berkecambah, panjang kecambah, dan terjadinya nekrotik pada kecambah. Kontrol yang digunakan dalam pengujian ini adalah benih cabai steril yang direndam dalam akuades steril dengan waktu yang sama. Khamir uji tidak bersifat patogenik apabila benih cabai dapat berkecambah tanpa nekrotik dan berdasarkan analisis statistik jumlah kecambah dan panjang kecambah tidak berbeda dengan kontrol.

Uji patogenisitas khamir juga dilakukan pada buah cabai. Uji patogenisitas khamir pada buah dilakukan dengan menginokulasi permukaan buah cabai yang sehat dan telah disterilkan dengan alkohol 70% dengan cara meneteskan suspensi khamir sebanyak 20 µl kerapatan 10^7 sel/ml melalui luka yang dibuat dengan jarum steril. Buah cabai yang telah diberi perlakuan suspensi khamir selanjutnya ditutup dengan plastik. Peubah yang diamati adalah gejala nekrotik yang timbul setelah diinokulasi dengan khamir.

Isolat khamir epifit nonpatogenik yang didapatkan dari tahap uji patogenisitas selanjutnya diseleksi dengan menguji kemampuan antagonismenya terhadap *Colletotrichum* sp. Seleksi khamir dilakukan secara *in vivo* pada buah cabai varietas *Hot Chilli* yang ditanam sendiri tanpa perlakuan pestisida. Isolat khamir yang digunakan berumur 5 hari dan isolat *Colletotrichum* sp. berumur 10 hari. Buah cabai varietas *Hot Chili* yang cukup masak dan sehat disterilisasi dengan alkohol 70% dan kloroks 1% masing-masing selama 1 menit dan dibilas dengan akuades steril tiga kali.

Seleksi antagonisme terdiri dari sejumlah perlakuan berupa isolat khamir epifit nonpatogenik. Setiap perlakuan diulang tiga kali, masing-masing ulangan terdiri atas tiga buah cabai. Perlakuan dilakukan menurut metode Dan *et al.* (2003) yaitu dengan mencelupkan buah cabai yang telah disterilisasi ke dalam suspensi khamir dengan kerapatan sel khamir 10^7 sel/ml yang telah diberi 0,02% tween 80% (v/v).

Sebelum diinokulasi, buah tersebut dikeringanginkan selama 1–2 jam. Selanjutnya, *Colletotrichum* sp. sebanyak 20 µl dengan kerapatan 10^4 konidium/ml diteteskan pada buah yang telah dilukai dan telah diberi perlakuan khamir. Luka pada buah dibuat menggunakan jarum steril pada dua titik dimana masing-masing titik terdiri atas tiga luka. Sebagai kontrol positif, buah cabai diberi perlakuan dengan suspensi konidium *Colletotrichum* sp. saja tanpa khamir, sedangkan sebagai kontrol negatif buah diberi perlakuan dengan akuades steril dengan teknik yang sama. Sebagai pembanding, digunakan fungisida mankozeb 80%. Selanjutnya, buah diinkubasi dalam wadah tertutup pada kondisi lembab (RH 95%) dan suhu 28°C.

Peubah yang diamati dalam tahap seleksi antagonisme adalah kejadian penyakit yaitu persentase gejala antraknosa yang timbul pada masing-masing satuan pengamatan. Penentuan persentase gejala berdasarkan prosedur James (1971), yang telah dimodifikasi dengan kisaran persentase gejala 0 sampai 100%, pengamatan dilakukan pada hari kelima setelah perlakuan (HSP). Persentase daya hambat dihitung berdasarkan rumus:

$$DH = ((G_k - G_p) / G_k) \times 100\%$$

dimana:

DH = Daya hambat (%)

G_k = Gejala antraknosa pada kontrol (%)

G_p = Gejala antraknosa pada perlakuan (%)

Khamir yang memiliki daya hambat $\geq 40\%$ ditetapkan berpotensi sebagai antagonis penyakit antraknosa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Khamir Epifit

Hasil isolasi khamir dari beberapa lokasi pertanaman cabai di Rancabango dan Panjiwangi (Kabupaten Garut), dan Dramaga (Kabupaten Bogor) diperoleh 43 isolat khamir epifit. Isolat khamir hasil isolasi dari Rancabango dan Panjiwangi berasal dari pertanaman cabai yang mendapat perlakuan pestisida, sedangkan isolat khamir hasil isolasi dari Dramaga berasal dari pertanaman cabai tanpa perlakuan pestisida.

Sampel tanaman cabai untuk isolasi khamir diambil pada April 2013, pada saat terjadi musim kemarau yang panjang. Hal ini sangat memengaruhi nutrisi tanaman dan lingkungan fisik yang memengaruhi populasi khamir yang didapatkan. Menurut Kachalkin *et al.* (2008) dan Kachalkin & Yurkov (2012) komunitas khamir ditentukan oleh karakteristik biokimia lingkungan dan iklim seperti suhu dan

kelembaban. Faktor nutrisi seperti nitrogen dan karbon sangat menentukan daya dukung filosfer terhadap pertumbuhan populasi khamir (Kachalkin & Yurkov 2012). Suhu, radiasi ultraviolet, dan kelembaban memengaruhi jumlah dan keragaman spesies khamir (Kachalkin & Yurkov 2012). Hal ini menunjukkan bahwa ukuran populasi khamir pada filosfer dibatasi oleh daya dukung lingkungan. Aplikasi pestisida juga diduga berpengaruh terhadap pertumbuhan populasi khamir khususnya khamir antagonis. Kalogiannis *et al.* (2006) menyatakan bahwa tanaman yang tumbuh secara organik bisa menjadi kelompok yang menarik untuk mendapatkan agens pengendalian biologi.

Isolasi Patogen Antraknosa

Hasil isolasi patogen antraknosa pada buah cabai menunjukkan bahwa patogen penyebab penyakit tersebut adalah *Colletotrichum acutatum*. Hal ini didasarkan pada hasil identifikasi baik secara morfologi maupun molekuler (Gambar 1). DNA cendawan hasil isolasi teramplifikasi dengan primer CaInt2 yang merupakan primer spesifik untuk *C. acutatum*. Ukuran fragmen produk *C. acutatum* adalah 490 bp. Hasil uji patogenesis *C. acutatum* menunjukkan bahwa cendawan hasil isolasi tersebut bersifat patogenik.

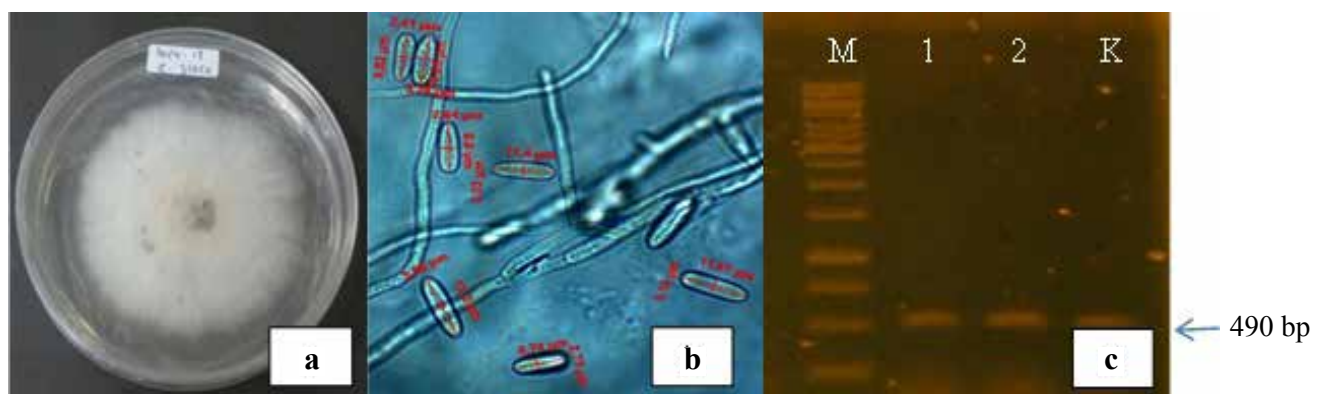
Uji Patogenesis Khamir

Perlakuan perendaman benih dalam suspensi khamir tidak menyebabkan penghambatan perkecambahan. Hal ini ditunjukkan dari hasil analisis statistik, yang mana perlakuan khamir epifit tidak berpengaruh terhadap persentase kecambah cabai baik pada isolat khamir epifit asal Rancabango dan Panjiwangi maupun Dramaga (Tabel 1 dan 2). Hasil uji patogenesis khamir terhadap panjang kecambah cabai menunjukkan bahwa isolat khamir asal Rancabango dan Panjiwangi tidak berpengaruh terhadap panjang kecambah

cabai, sedangkan isolat khamir epifit asal Dramaga berpengaruh terhadap panjang kecambah cabai. Akan tetapi, hasil uji lanjut menunjukkan bahwa panjang kecambah cabai dengan perlakuan khamir epifit asal Dramaga tidak berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa isolat khamir epifit uji tidak menghambat pertumbuhan kecambah cabai. Khamir epifit uji juga tidak menimbulkan nekrotik pada kecambah cabai.

Hasil uji patogenesis khamir pada buah menunjukkan bahwa semua isolat khamir epifit yang diuji bersifat nonpatogenik. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gejala apapun pada buah setelah diberi perlakuan khamir. Beberapa isolat khamir epifit bahkan memperlihatkan pertumbuhan pada permukaan buah cabai yang tampak berwarna putih menutupi permukaan buah yang diinokulasi. Akan tetapi, pertumbuhan khamir ini tidak menimbulkan gejala pada buah tersebut (Gambar 2). Berdasarkan hasil uji patogenesis khamir epifit baik pada benih maupun buah disimpulkan bahwa semua isolat khamir epifit yang diperoleh dari hasil isolasi tidak bersifat patogenik.

Deteksi sifat patogenik terhadap tanaman sangat penting bagi mikroba yang akan digunakan sebagai agens antagonis. Khamir merupakan mikroba yang jarang dilaporkan sebagai patogen pada tanaman. Keberadaan khamir pada permukaan tanaman disebabkan tanaman mengeluarkan nutrisi, terutama pada buah dan nektar bunga. Tanaman melepaskan berbagai gula, alkohol, dan asam amino (Kachalkin & Yurkov 2012). Khamir mampu memanfaatkan nutrisi tanaman tersebut dengan cepat untuk memenuhi kebutuhan hidupnya, sehingga tidak menimbulkan kerusakan pada tanaman.



Gambar 1. (a) Koloni *C. acutatum* pada media PDA, (b) konidia *C. acutatum* (perbesaran 1.000x), (c) elektroforesis DNA *C. acutatum* hasil amplifikasi menggunakan primer CaInt2 dan ITS4 (M) penanda DNA 1 kb, (1) sampel 1, (2) sampel 2, (K) kontrol positif [(a) Colony of *C. acutatum* on PDA, (b) conidia of *C. acutatum* (magnified 1,000x), (c) Electrophoresis of amplified DNA of *C. acutatum* using CaInt2 and ITS4 primers (M) DNA marker 1 kb, (1) sample 1, (2) sample 2, (K) positive control]

Tabel 1. Uji patogenesis khamir epifit asal Rancabango dan Panjiwangi, Garut menggunakan benih cabai
(*Pathogenicity test of epiphytic yeasts from Rancabango and Panjiwangi, Garut on chili seeds*)

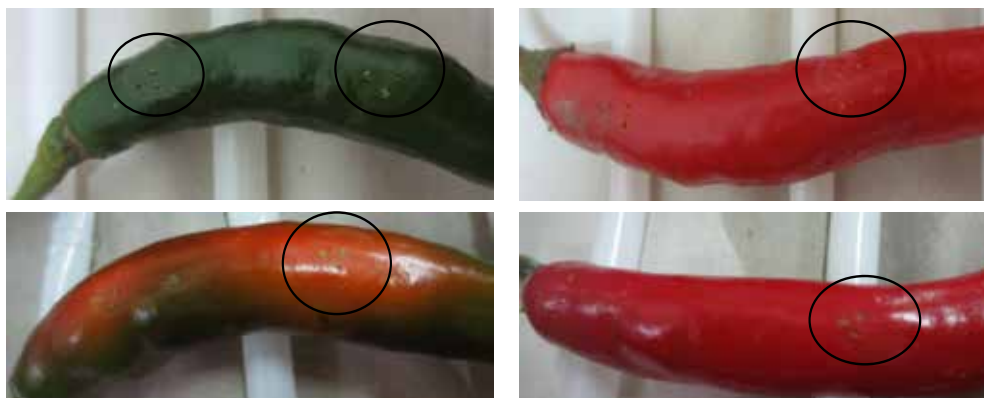
| Kode isolat (<i>Isolate's code</i>) | Persentase kecambah (<i>Percentage of seedlings</i>), % | Rerata panjang kecambah (<i>Mean of seedling length</i>), cm |
|---------------------------------------|--|---|
| Kontrol | 95 | 5,63 |
| Rb 30 DEP | 100 | 4,42 |
| Pw 37 DEP | 100 | 4,67 |
| Pw 34 DEP | 100 | 4,97 |
| Rb 41 DEP | 100 | 5,58 |
| Pw 72 BEP | 100 | 5,28 |
| Rb 45 BEP | 100 | 5,63 |
| Rb 22 DEP | 90 | 5,05 |
| Rb 46 DEP | 100 | 5,91 |
| Pw 73 BEP | 95 | 4,74 |
| Rb 44 BEP | 100 | 5,47 |
| Rb 45 BEP | 100 | 5,70 |
| Rb 32 DEP | 100 | 5,26 |
| Pw 36 DEP | 100 | 6,20 |
| Pw 32 DEP | 100 | 6,51 |
| Rb 28 DEP | 100 | 5,08 |
| Rb 31 DEP | 95 | 5,13 |

Seleksi Antagonisme Isolat Khamir Epifit Terhadap Antraknosa Pada Cabai

Hasil seleksi antagonisme isolat khamir epifit asal Rancabango dan Panjiwangi menunjukkan bahwa pada 5 HSP semua isolat khamir yang diuji dapat mengurangi persentase gejala antraknosa pada buah cabai dibandingkan dengan kontrol. Empat isolat khamir memiliki potensi sebagai antagonis berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan, dengan daya hambat berkisar antara 40,34–53,44% (Tabel 3).

Hasil seleksi antagonisme isolat khamir epifit asal Dramaga menunjukkan bahwa pada 5 HSP terdapat 19

isolat khamir yang berpotensi sebagai antagonis terhadap penyakit antraknosa (Tabel 3). Berbeda dengan isolat khamir asal Rancabango dan Panjiwangi, isolat khamir epifit asal Dramaga menunjukkan potensi antagonisme yang lebih besar. Hal ini ditunjukkan dengan nilai daya hambat berkisar antara 45,53–99,12% (Tabel 3). Terdapat dua isolat khamir epifit yang menyebabkan daya hambat terhadap penyakit antraknosa > 90% yaitu isolat Dmg 16 BEP dan Dmg 20 DEP. Apabila dibandingkan dengan daya hambat yang disebabkan oleh mankozeb (54,13%), terdapat 14 isolat khamir epifit yang menyebabkan daya hambat lebih besar dibandingkan dengan mankozeb 80% (Tabel 3).



Gambar 2. Uji patogenesis khamir pada buah cabai, gejala nekrotik tidak muncul pada tempat khamir diinokulasikan (tanda lingkaran) [Pathogenicity test of epiphytic yeasts on chili fruit, necrotic was not developed on the spot where yeast was inoculated (circled spot)]

Tabel 2. Uji patogenisitas khamir epifit asal Dramaga, Bogor menggunakan benih cabai (*Pathogenicity test of epiphytic yeasts from Dramaga, Bogor on chili seeds*)

| Kode isolat (<i>Isolate's code</i>) | Persentase kecambah (<i>Percentage of seedlings</i>), % | Rerata panjang kecambah (<i>Mean of seedling length</i>), cm |
|---------------------------------------|--|---|
| Dmg 32 DEP | 100 | 7,57 a |
| Dmg 18 BEP | 100 | 7,03 ab |
| Dmg 24 DEP | 100 | 6,91 ab |
| Dmg 22 DEP | 95 | 6,82 ab |
| Dmg 8 DEP | 100 | 6,61 abc |
| Dmg 11 DEP | 100 | 6,47 abcde |
| Dmg 17 BEP | 100 | 6,44 abcde |
| Dmg 15 BEP | 100 | 6,41abcde |
| Dmg 28 DEP | 95 | 6,33 abcdef |
| Dmg 30 DEP | 100 | 6,21 abcdef |
| Kontrol | 100 | 6,18 abcdef |
| Dmg 19 DEP | 100 | 6,14 abcdef |
| Dmg 16 BEP | 95 | 6,13 abcdef |
| Dmg 3 BEP | 100 | 6,12 abcdef |
| Dmg 7 DEP | 95 | 6,1 abcdef |
| Dmg 14 DEP | 100 | 6,09 abcdef |
| Dmg 20 DEP | 95 | 5,8 bcdef |
| Dmg 5 DEP | 100 | 5,79 bcdef |
| Dmg 10 DEP | 100 | 5,77 bcdef |
| Dmg 25 DEP | 100 | 5,71 bcdef |
| Dmg 12 DEP | 100 | 5,67 bcdef |
| Dmg 27 BEP | 100 | 5,61 bcdef |
| Dmg 21 DEP | 95 | 5,55 bcdef |
| Dmg 23 DEP | 100 | 5,47 bcdef |
| Dmg 6 BEP | 100 | 5,32 bcdef |
| Dmg 31 DEP | 100 | 4,97 cdef |
| Dmg 29 DEP | 95 | 4,88 def |
| Dmg 2 BEP | 100 | 4,63 f |
| KK (CV), % | | 11,69 |

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada lajur yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5% (*Mean followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's multiple range test at $p < 0.05$*) CV = 11,69

Khamir telah dilaporkan berperan sebagai antagonis patogen tanaman terutama pada produk pascapanen. Beberapa spesies khamir dilaporkan dapat menghambat perkembangan penyakit pascapanen di antaranya adalah *Pichia membranefaciens* dan *Candida albidus* (Chan & Tian 2005), *C. oleophila*, *Cryptococcus albidus*, *Metschnikowia fructicola* (Droby 2006), *Aureobasidium pullulans* (Bencheqroun et al. 2007), *C. musae*, *Issatchenkia orientalis*, *C. quercitrusa* (Chanchaichaovivat et al. 2007), *M. pulcherrima* (Saravanakumar et al. 2008), *P. guilliermondii* (Chanchaichaovivat et al. 2007, Nantawanit et al. 2010).

Khamir memiliki mekanisme antagonisme berupa kompetisi nutrisi dan ruang, parasitisme dan produksi enzim litik serta induksi ketahanan sehingga mampu mengendalikan beberapa patogen pascapanen (Nunes 2012). *Metschnikowia pulcherrima* memiliki kemampuan kompetisi besi untuk menghambat *Botrytis*

cinerea, *Alternaria alternata* dan *Penicillium expansum* pada apel (Saravanakumar et al. 2008). *Pichia membranefaciens* dan *C. albidus* memiliki kemampuan untuk melekat pada hifa *Monilinia fructicola*, *P. expansum*, dan *Rhizopus stolonifer* (Chan & Tian 2005). Pelekatan ini mengakibatkan degradasi dinding sel fungi yang disebabkan enzim litik yang dihasilkan oleh khamir. Mekanisme biokontrol *P. guilliermondii* M8 terhadap *B. cinerea* melalui kompetisi nitrogen dan karbon, sekresi enzim hidrolitik dan induksi ketahanan tanaman inang (Zhang et al. 2011). Hasil penelitian ini juga diduga disebabkan khamir epifit uji memiliki kemampuan mekanisme antagonisme tersebut.

Penghambatan gejala antraknosa yang disebabkan oleh khamir epifit dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh mekanisme kompetisi nutrisi dan ruang serta parasitisme. Pelukaan buah yang dibuat untuk inokulasi patogen pada penelitian ini, nampaknya dapat dimanfaatkan oleh khamir untuk mendapatkan nutrisi dan mampu mengkolonisasi permukaan buah dengan

Tabel 3. Daya hambat isolat khamir epifit asal Rancabango dan Panjiwangi, Garut dan Dramaga, Bogor terhadap penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *C. acutatum* pada 5 HSP (*The inhibition of epiphytic yeasts from Rancabango and Panjiwangi, Garut and Dramaga, Bogor on the anthracnose disease caused by C. acutatum at 5 days after treatment*)

| Kode isolat (<i>Isolate's code</i>) | Daya Hambat (<i>Inhibition activity</i>), % |
|---------------------------------------|---|
| Rb 30 DEP | 27,02 |
| Rb 45 BEP | 34,06 |
| Rb 36 DEP | 39,9 |
| Rb 28 DEP | 33,91 |
| Rb 44 BEP | 53,44 |
| Rb 31 DEP | 34,73 |
| Rb 41 DEP | 43,04 |
| Rb 32 DEP | 24,55 |
| Rb 22 DEP | 32,41 |
| Rb 46 DEP | 28,89 |
| Pw 34 DEP | 47,16 |
| Pw 72 BEP | 29,12 |
| Pw 73 BEP | 28,89 |
| Pw 32 DEP | 29,34 |
| Pw 37 DEP | 40,34 |
| Pw 45 BEP | 33,83 |
| Dmg 6 BEP | 51,98 |
| Dmg 20 DEP | 99,12 |
| Dmg 17 BEP | 2,78 |
| Dmg 18 BEP | 69,11 |
| Dmg 23 DEP | 73,94 |
| Dmg 7 DEP | 78,92 |
| Dmg 3 DEP | 51,98 |
| Dmg 2 BEP | 68,23 |
| Dmg 14 DEP | 36,60 |
| Dmg 31 DEP | 85,36 |
| Dmg 10 DEP | 35,72 |
| Dmg 28 DEP | 68,23 |
| Dmg 12 DEP | 59,30 |
| Dmg 11 DEP | 78,04 |
| Dmg 27 BEP | 63,40 |
| Dmg 19 DEP | 34,85 |
| Dmg 4 DEP | 31,77 |
| Dmg 29 DEP | 82,87 |
| Dmg 16 BEP | 90,19 |
| Dmg 32 DEP | 69,55 |
| Dmg 5 DEP | -1,32 |
| Dmg 8 DEP | 36,60 |
| Dmg 21 DEP | 43,92 |
| Dmg 25 DEP | 45,53 |
| Dmg 30 DEP | 79,65 |
| Dmg 22 DEP | 53,15 |
| Dmg 15 BEP | 2,34 |
| Mankoze 80% | 54,13 |

cepat dibandingkan dengan *C. acutatum*. Selain itu, khamir epifit uji diduga mampu menghasilkan enzim litik dan memiliki mekanisme hiperparasitisme terhadap *C. acutatum*. Daya hambat tertinggi yang disebabkan oleh isolat Dmg 16 BEP dan Dmg 20 DEP menunjukkan kemampuan yang tinggi dalam mekanisme antagonismenya. Daya hambat oleh beberapa khamir epifit yang lebih tinggi dibandingkan mankozeb menunjukkan bahwa isolat khamir ini lebih efektif dibandingkan dengan fungisida dalam mengendalikan antraknosa yang disebabkan oleh *C. acutatum* pada buah cabai. Oleh karena itu, isolat-isolat khamir ini memiliki potensi untuk menggantikan fungisida kimia.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Sebanyak 43 isolat khamir berhasil diperoleh dari hasil isolasi khamir asal cabai dari Rancabango, Garut, dan Dramaga, Bogor. Semua isolat khamir tersebut bersifat nonpatogenik.
2. Berdasarkan hasil seleksi potensi antagonisme isolat khamir epifit diperoleh 23 isolat khamir epifit yang berpotensi sebagai agens antagonis terhadap penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *C. acutatum*.
3. Terdapat 14 khamir epifit yang memiliki potensi untuk menggantikan fungisida kimia dalam mengendalikan penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *C. acutatum* pada cabai.

PUSTAKA

1. Abd-El Salam, KA, Aly, IN, Abdel-Satar, Khalil, MS & Verreet, JA 2003, 'PCR identification of *Fusarium* genus based on nuclear ribosomal-DNA sequence data', *African J. Biotechnol.*, vol. 2, no. 4, pp. 82-5.
2. Assis, SMP & Mariano, RLR 1999, 'Antagonisme of yeast to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on cabbage phylloplane in field', *Rev. Microbiol.*, vol. 30, pp. 191-5.
3. Alexopoulos, CJ & Mims, CW 1996, 'Introductory mycology, Fourth edition, John Wiley & Sons, Inc. New York.
4. Barnett, HL & Hunter, BB 1998, 'Illustrated genera of imperfect fungi', Fourth edition, The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota, APS Press.
5. Bencheqroun, SK, Bajji, M, Massart, S, Labhilili, M, Jaafari, S & Jijakli, H 2007, 'In vitro and in situ study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: evidence for the involvement of competition for nutrients', *Postharvest Biol. and Tech.*, vol. 46, pp. 128-35.
6. Chan, Z & Tian, S 2005, 'Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action', *Postharvest Biol. and Tech.*, vol. 36, pp 215-23.

7. Chanchaichaovivat, A, Ruenwongsa, P & Panijpan, B 2007, 'Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*)', *Biol. Cont.*, vol. 42, pp. 326-35.
8. Dan, H, Zheng, XD, Yin, YM, Sun, P & Zhang, HY 2003, 'Yeasts application for controlling apple postharvest diseases associated with *Penicillium expansum*', *Bot. Bull. Acad. Sin.*, vol. 44, pp. 211-6.
9. Droby, S 2006, 'Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: difficulties and challenges', *Phytopathol. Pol.*, vol. 39, pp. 105-17.
10. Glushakova, AM & Chernov I 2009, 'Yeast communities dynamics in fruits of Hedge rose (*Rosa canina*)', *Mycol. and Phytopathol.*, vol. 43, pp. 193-9.
11. Har'ssam, JM 2011, '*Pichia anomala* in biocontrol for apples: 20 years of fundamental research and practical applications', *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 99, pp. 93-105.
12. Irtwange, SV 2006, 'Application of biological control agents in pre- and postharvest operations', *Agric. Eng. Int.: The CIGR Ejournal*, Invited Overview, vol. 8, no. 3.
13. James, WC 1971, 'An illustrated series of assessment keys for plant diseases, their preparation and usage', *Can. Plant Dis. Surv.*, vol. 51, no. 2, pp. 39-65.
14. Kachalkin, AV, Glushakova, AM, Yurkov, AM & Chernov I 2008, 'Characterization of yeast groupings in the phyllosphere of *Sphagnum mosses*', *Microbiol.*, vol. 77, pp. 474-81.
15. Kachalkin, AV & Yurkov, AM 2012, 'Yeast communities in *Sphagnum* phyllosphere along the temperature-moisture ecocline in the boreal forest-swamp ecosystem and description of *Candida sphagnicola* sp. nov.', *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 102, pp. 29-43.
16. Kalogiannis, S, Tjamos, SE, Stergiou, A, Antoniou, PP, Ziogas, BN & Tjamos, EC 2006, 'Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomato', *Eur. J. Plant Pathol.*, vol. 116, pp. 69-76.
17. Nantawanit, N, Chanchaichaovivat, A, Panijpan, B & Ruenwongsa, P 2010, 'Induction of defense response against *Colletotrichum capsici* in chili fruit by the yeast *Pichia guilliermondii* strain R13', *Biol. Cont.*, vol. 52, pp. 145-52.
18. Nunes, CA 2012, 'Biological control of postharvest diseases of fruit', *Eur. J. Plant Pathol.*, vol. 133, pp. 181-96.
19. Sangdee, A, Sachan, S & Khankhum, S 2011, 'Morphological, pathological and molecular variability of *Colletotrichum capsici* causing anthracnose of chilli in the North-East of Thailand', *Afr. J. Microb. Res.*, vol. 5, no. 25, pp. 4368-72.
20. Saravanakumar, D, Clavorella, A, Spadaro, D, Garibaldi, A & Gullino, ML 2008, '*Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 outcompetes *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* and *Penicillium expansum* in apples through iron depletion', *Postharvest Biol. and Tech.*, vol. 49, pp. 121-8.
21. Sharma, RR, Singh, D & Singh, R 2009, 'Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial Antagonists: A review', *Biol. Cont.*, vol. 50, pp. 205-21.
22. Than, PP, Prihastuti, H, Phoulivong, S, Taylor, PWJ & Hyde, KD 2008, 'Review: Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species', *J Zhejiang Univ Sci B.*, vol. 9, no. 10, pp. 764-78.
23. Zhang, D, Spadaro, D, Garibaldi, A & Gullino, M L 2011, 'Potential biocontrol activity of a strain of *Pichia guilliermondii* against grey mold of apples and its possible modes of action', *Biol Cont.*, vol. 57, pp. 193-201.
24. Ziogas, BN, Markoglou, AN & Spyropoulou, V 2005, 'Effect of phenylpyrrole resistance mutations on ecological fitness of *Botrytis cinerea* and their genetical basis in *Ustilago maydis*', *Eur. J. Plant Pathol.*, vol. 113, pp. 83-100.